Fisheries and Oceans Canada | Pêches et Océans Canada

Ecosystems and Oceans Science | Sciences des écosystèmes et des océans

Secrétariat canadien de consultation scientifique (SCCS)

Documents de recherche 2018/048

Région de la capitale nationale

Loi canadienne sur la protection de l'environnement - Rapport d'évaluation des risques indirects sur la santé humaine de *Gymnocorymbus ternetzi* CGT2016

K. Ali et S. Dugan

Division de l'évaluation des substances nouvelles – LCPE
Santé Canada
269, avenue Laurier Ouest
Ottawa (Ontario) K1A 0K9

Août 2018

Canada

Avant-propos

La présente série documente les fondements scientifiques des évaluations des ressources et des écosystèmes aquatiques du Canada. Elle traite des problèmes courants selon les échéanciers dictés. Les documents qu'elle contient ne doivent pas être considérés comme des énoncés définitifs sur les sujets traités, mais plutôt comme des rapports d'étape sur les études en cours.

Publié par :

Pêches et Océans Canada
Secrétariat canadien de consultation scientifique
200, rue Kent
Ottawa (Ontario) K1A 0E6

http://www.dfo-mpo.gc.ca/csas-sccs/
csas-sccs@dfo-mpo.gc.ca

© Sa Majesté la Reine du Chef du Canada, 2018.
ISSN 2292-4272

La présente publication doit être citée comme suit :

Ali, K. et Dugan, S. 2018. *Loi canadienne sur la protection de l'environnement* – Rapport d'évaluation des risques indirects sur la santé humaine de *Gymnocorymbus ternetzi* CGT2016. Secr. can. de consult. sci. du MPO, Avis sci. 2018/048. iv + 15 p.

Also available in English :

Ali, K. and Dugan, S. 2018. Canadian Environmental Protection Act Indirect Human Health Assessment Report on Gymnocorymbus ternetzi CGT2016. DFO Can. Sci. Advis. Sec. Res. Doc. 2018/048. iv + 13 p.

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ IV

INTRODUCTION 1

ÉVALUATION DES DANGERS 1

IDENTIFICATION ET CARACTÉRISATION DE *GYMNOCORYMBUS TERNETZI* CGT2016 1

Nom binomial 1

Taxonomie 1

Synonymes, noms communs et noms périmés 1

Caractérisation et justification de l'identification taxonomique 1

Historique de la souche 2

Modifications génétiques – Mutations phénotypiques et génotypiques résultant des modifications et de la stabilité des modifications génétiques 2

Propriétés biologiques et écologiques 3

Effets sur la santé humaine 3

Antécédents d'utilisation 6

CARACTÉRISATION DES DANGERS 6

INCERTITUDE LIÉE À L'ÉVALUATION DES DANGERS INDIRECTS POUR LA SANTÉ HUMAINE 7

ÉVALUATION DE L'EXPOSITION 8

IMPORTATION 8

INTRODUCTION DE L'ORGANISME 8

DEVENIR DANS L'ENVIRONNEMENT 9

AUTRES UTILISATIONS POSSIBLES 9

CARACTÉRISATION DE L'EXPOSITION 10

INCERTITUDE LIÉE À L'ÉVALUATION DES RISQUES INDIRECTS POUR LA SANTÉ HUMAINE 11

CARACTÉRISATION DES RISQUES 12

UTILISATION DÉCLARÉE 12

AUTRES UTILISATIONS POTENTIELLES 12

CONCLUSION DE L'ÉVALUATION DES RISQUES 12

RÉFÉRENCES CITÉES 13

RÉSUMÉ

Une évaluation des risques indirects pour la santé humaine a été réalisée sur *Gymnocorymbus ternetzi* CGT2016, qui a été déclaré en vertu de la *Loi canadienne sur la protection de l'environnement* (LCPE). Cette évaluation des risques se penche sur le potentiel du CGT2016 de provoquer des effets nocifs sur les humains au Canada à la suite d'une exposition dans l'environnement, y compris une exposition en milieu naturel ou dans le cadre de son utilisation prévue (c.-à-d., dans un aquarium domestique), comparativement à la souche sauvage de l'espèce. Le CGT2016 est une lignée de tétra noir diploïde, hémizygote ou homozygote, à nageoires longues ou normales, génétiquement modifié et contenant une protéine vert fluorescent. Le CGT2016, qui affiche une coloration verte à la lumière ambiante, y compris à la lumière du soleil, sera importé des États-Unis pour être utilisé comme poisson d'ornement dans les aquariums domestiques. La lignée déclarée est commercialisée en tant que poisson d'aquarium dans l'ensemble des États-Unis, à l'exception de la Californie, depuis 2012, et en Californie depuis 2015, sans qu'aucun incident n'ait été signalé. La souche mère, *G. ternetzi*, est commercialisée en tant que poisson d'ornement pour les aquariums domestiques depuis au moins 1950. Rien n'indique que l'organisme présente un risque d'effet néfaste sur la santé humaine aux niveaux d'exposition prévus pour la population canadienne lorsqu'il est utilisé en tant que poisson d'ornement dans des aquariums ou dans les autres utilisations potentielles répertoriées. Dans ces conditions, le CGT2016 ne devrait pas poser plus de risque pour la santé humaine que son homologue sauvage.

INTRODUCTION

Cette évaluation des risques indirects pour la santé humaine a été menée sur *Gymnocorymbus ternetzi* CGT2016, une lignée de tétra noir diploïde, hémizygote ou homozygote, à nageoires longues ou normales, génétiquement modifié et contenant une protéine vert fluorescent. Cette évaluation des risques se penche sur le potentiel du CGT2016 de provoquer des effets nocifs sur les humains au Canada à la suite d'une exposition dans l'environnement, y compris une exposition en milieu naturel ou dans le cadre de son utilisation prévue (c.-à-d., dans un aquarium domestique), comparativement à la souche sauvage de l'espèce. Le CGT2016 affiche une coloration verte à la lumière ambiante, y compris à la lumière du soleil, et sera importé des États-Unis pour être utilisé comme poisson d'ornement dans les aquariums domestiques. L'évaluation des risques a été effectuée conformément au *Règlement sur les renseignements concernant les substances nouvelles (organismes)* [RRSN(O)] de la *Loi canadienne sur la protection de l'environnement* (LCPE).

ÉVALUATION DES DANGERS

IDENTIFICATION ET CARACTÉRISATION DE *GYMNOCORYMBUS TERNETZI* CGT2016

Nom binomial

Gymnocorymbus ternetzi CGT2016

Taxonomie

Règne	Animal
Embranchement	Chordés
Classe	Actinoptérygiens
Ordre	Characiformes
Famille	Characidés
Genre	*Gymnocorymbus*
Espèce	*Gymnocorymbus ternetzi* (Boulenger 1895)
Souche	CGT2016

Synonymes, noms communs et noms périmés

« *Gymnocorymbus ternetzi* » (Boulenger 1895);

Nom commun : tétra noir, veuve noire, veuve tétra, tétra blanc; appellations commerciales du CGT2016 : GloFish® Electric Green® Tetra et GloFish® Long-Fin Electric Green® Tetra.

Caractérisation et justification de l'identification taxonomique

Le CGT2016 est une lignée génétiquement modifiée de tétra noir diploïde, hémizygote ou homozygote, à nageoires longues ou normales, et contenant une protéine vert fluorescent qui lui confère une coloration verte à la lumière ambiante, y compris à la lumière du soleil. Il est issu d'une lignée de tétra blanc, qui est une variante pigmentaire naturelle de *G. ternetzi*. La présence d'une seule copie de l'insert de la construction a été confirmée par un essai de PCR quantitative comparé à une courbe standard, et un seul site d'insertion a été confirmé par l'analyse par transfert de Southern. La ségrégation du transgène en cas d'accouplement avec des poissons sauvages a également confirmé la présence d'un site d'insertion unique.

G. ternetzi peut être distingué des autres espèces de *Gymnocorymbus* au moyen des caractéristiques décrites dans une clé d'identification présentée dans Géry (1977) et d'autres descriptions fournies par Benine *et al.* (2015). Ses dents à trois cuspides le distinguent de son plus proche parent, *G. flaviolimai,* dont les dents du prémaxillaire comptent cinq cuspides (Benine *et al.* 2015). Il se distingue également des autres espèces de *Gymnocorymbus* (*G. bondi* et *G. thayeri*) par la marge distale fortement convexe de sa nageoire anale (qui est droite chez *G. bondi* ou légèrement convexe chez *G. thayeri*) et par sa nageoire pelvienne à six rayons (Benine *et al.* 2015).

Historique de la souche

G. ternetzi CGT2016 a été développé à partir de la variante blanche du tétra noir (tétra blanc). La variante blanche du tétra noir découle d'une mutation naturelle de la couleur du tétra noir de la variété sauvage pigmentée (Frankel, 2004). Selon Frankel (2004), *G. ternetzi* présente deux phénotypes liés aux bandes présentes sur son corps. Le poisson affiche soit une coloration gris fumée et deux bandes verticales noires bien visibles directement derrière l'opercule (tétra noir) ou une coloration plus claire et dépourvue de bandes (tétra blanc). Le tétra noir a été introduit aux États-Unis un peu avant les années 1950 (Innes, 1950).

Pour produire la lignée CGT2016 de *G. ternetizi,* une cassette génétique contenant la construction d'ADN codant pour une protéine vert fluorescent a été injectée dans des œufs fertilisés, et la présence de fluorescence verte a été vérifiée chez les alevins. Des précisions concernant le développement de la souche et l'historique de la lignée déclarée ont été fournies par la société aux seules fins de l'examen et de l'évaluation des risques en cours, mais ces renseignements sont désignés comme des renseignements commerciaux confidentiels et ne sont pas inclus dans le présent rapport.

Modifications génétiques – Mutations phénotypiques et génotypiques résultant des modifications et de la stabilité des modifications génétiques

La variété sauvage, *G. ternetzi,* est une espèce non alimentaire qui est utilisée en toute sécurité dans les aquariums du monde entier depuis de nombreuses décennies. De la même manière, l'organisme déclaré, *G. ternetzi* CGT2016, qui affiche une coloration verte à la lumière ambiante, y compris à la lumière du soleil, est uniquement destiné à être utilisé par la population comme poisson d'ornement dans des aquariums.

Selon l'information fournie par le déclarant, outre le fait que le CGT2016 transgénique prend une coloration verte à la lumière ambiante, il présente aussi un moins grand succès de reproduction que son homologue blanc non transgénique et une sensibilité accrue aux basses températures. Même si ces changements sont légers et qu'ils ne devraient pas avoir de répercussion sur l'adaptation de ces organismes dans les aquariums domestiques, ils pourraient avoir des effets négatifs sur la capacité de ces organismes à survivre et à se reproduire dans l'environnement canadien. Par ailleurs, la démarche adoptée pour produire, élever et préparer la lignée CGT2016 de *G. ternetzi* pour la vente est considérée adéquate pour assurer la stabilité génétique du stock de géniteurs, car :

- la lignée CGT2016 est issue d'un seul œuf injecté, et la ségrégation du transgène en cas d'accouplement avec des poissons sauvages a confirmé la présence d'un site d'insertion unique;
- la lignée le CGT2016 renferme une copie de la cassette d'expression génétique dans un seul site, ce qui est confirmé par une PCR quantitative en temps réel. Les marqueurs phénotypiques, largement fondés sur la couleur du poisson, sont utilisés pour assurer la composition génétique uniforme du stock de géniteurs. Le CGT2016 hémizygotes et

homozygotes étant visuellement impossibles à distinguer, ils sont donc indifféremment utilisés dans le stock de géniteurs. La perte (rare) ou l'inactivation de la cassette d'expression produirait un tétra blanc phénotypique, qui serait simplement isolé de la progéniture fluorescente et impossible à distinguer des tétras noirs non modifiés. Ces tétras blancs ne sont pas utilisés dans le stock de géniteurs. Une lignée de tétras noirs fluorescents a été maintenue sur plus de cinq générations, et la production commerciale s'est poursuivie pendant plus de cinq ans.

Des précisions concernant la structure, le développement et le fonctionnement de la construction transgénique ont été fournies explicitement par la société aux fins d'examen, mais ces renseignements sont désignés comme des renseignements commerciaux confidentiels et ne sont pas inclus dans le présent rapport.

Propriétés biologiques et écologiques

La variété sauvage de *G. ternetzi* est une espèce de poisson tropical d'eau douce de l'ordre des Characiformes qui est très répandue; elle est indigène des cours d'eau d'Amérique du Sud qui sillonnent les bassins de l'Amazone (bassin du rio Guaporé) et de la Plata (fleuve Paraguay) ainsi que d'autres bassins versants du sud du Brésil, de l'Argentine et de la Bolivie (Géry, 1977). Dans la nature, cette espèce vit dans les zones racinaires des végétaux, dans des eaux douces relativement fraîches (de 22 à 24 °C) à faible courant, brunes, mais claires et légèrement acides (pH de 5,5 à 6,3) (Sakurai *et al.*, 1992; Meschiattia *et al.*, 2000). Elle atteint environ 5 cm de longueur à maturité et se nourrit de vers, d'insectes et de petits crustacés planctoniques (Mills et Vevres, 1989). En captivité, l'espèce se développe mieux à des températures de 23 à 26 °C; dans les aquariums domestiques, ses besoins alimentaires peuvent être facilement comblés au moyen d'aliments commerciaux.

G. ternetzi est un poisson ovipare qui fraie en couple et qui atteint la maturité sexuelle entre neuf mois et un an (Scheurmann, 1990). Son comportement de fraie est déclenché par le début de la saison des pluies. Il affiche un comportement de rassemblement en bancs et, lorsqu'il est introduit dans des aquariums communautaires en groupes de cinq ou plus, il ne se montre généralement pas agressif envers les autres espèces (Innes, 1950). Les couples d'adultes qui ont atteint la maturité sexuelle se séparent du banc et fraient dans les eaux libres. Les œufs éclosent en 24 à 36 heures, et les alevins nagent librement cinq à six jours après l'éclosion (Axelrod et Vorderwinkler, 1976; Scheurmann, 1990).

Chez *G. ternetzi*, les bandes sombres bien visibles situées directement derrière l'opercule servent très probablement de camouflage et confèreraient donc au poisson un avantage sélectif en le dotant de marques interspécifiques qui lui permettent d'échapper à la prédation (Frankel, 2004). Le tétra blanc et le CGT2016 n'ont pas ces marques qui leur permettent d'éviter les prédateurs, et le déclarant, qui reprend l'argument de Frankel (2004), soutient que les risques de prédation seraient donc plus importants dans la nature. Bien que les poissons fluorescents puissent être plus attrayants pour les prédateurs à l'état sauvage (Hill *et al.*, 2011), les résultats relatifs aux effets de la transgénèse fluorescente sur la capacité d'un organisme d'échapper à la prédation sont contradictoires (Cortemeglia et Beitinger, 2006; Jha, 2010; Hill *et al.*, 2011).

Effets sur la santé humaine

Potentiel zoonotique

Les recherches internes de la littérature scientifique n'ont permis de découvrir aucun signalement de zoonose ou autre effet indésirable attribuables à l'organisme déclaré (*G. ternetzi* CGT2016) ou à la variété sauvage. Le déclarant a fourni des déclarations de

vétérinaires qui travaillent dans ses pisciculture indiquant qu'à la lumière de leur expérience et de leurs observations, rien ne donnait à penser que la lignée déclarée présentait une vulnérabilité accrue aux agents pathogènes ou un risque zoonotique plus élevé que les tétras noirs non modifiés. Cependant, de rares cas d'infections zoonotiques dues à un contact avec des poissons tropicaux d'ornement et de zoonoses indirectes dues à l'ingestion de nourriture ou d'eau contaminée par des agents pathogènes et des parasites associés aux poissons d'ornement ou d'aquarium ont été signalés. Les maladies bactériennes sont extrêmement fréquentes chez les poissons d'ornement et sont le plus souvent associées à des bactéries omniprésentes dans le milieu aquatique qui agissent comme des agents pathogènes opportunistes en présence de stress (Roberts *et al.*, 2009). La transmission par contact est la principale voie d'infection bactérienne chez les humains due à la manipulation d'organismes aquatiques (Lowry et Smith, 2007). Les espèces bactériennes les plus communes associées aux poissons tropicaux en mesure de provoquer des maladies humaines sont des espèces des genres *Aeromonas* et *Salmonella*, ainsi que les espèces *Mycobacterium marinum* et *Streptococcus iniae* (CDC, 2015); la plupart des infections signalées étaient attribuables à *M. marinum* (Weir *et al.*, 2012).

Chez les humains, *M. marinum* est l'agent responsable du « granulome des aquariums », une maladie qui cause des lésions cutanées ulcéreuses ou des nodules granulomateux. Ces lésions sont généralement limitées aux extrémités distales en raison de la préférence de *M. marinum* pour les températures fraîches (< 37 °C) [Gauthier, 2015]. Cependant, de rares cas de mycobactériose systémique ont été décelés chez des personnes immunodéprimées (Lowry et Smith, 2007). Les infections sont généralement contractées lorsque des blessures et des abrasions cutanées sont exposées à de l'eau contaminée (Gauthier, 2015). Les lésions font généralement moins de 2 cm de diamètre, et la taille et la sensibilité des boursouflures et leur nombre augmentent lentement au fil des semaines ou des mois (Boylan, 2011). Les infections causées par *M. marinum* étant difficiles à diagnostiquer chez les humains, il est impératif de connaître les antécédents d'exposition à de l'eau ou à des poissons d'aquarium pour établir le bon diagnostic et prescrire le traitement antibiotique adéquat (Beran *et al.*, 2006).

La littérature scientifique fait état des cas signalés d'infections par *M. marinum* à la suite d'une exposition à de l'eau ou à des poissons d'aquarium, notamment Huminer *et al.* (1986); Aubry *et al.* (2002), Lahey (2003), Slany *et al.* (2012; 2013), Wu *et al.* (2012) et Riera *et al.* (2016). Aucun des cas signalés n'est toutefois attribuable à la lignée déclarée ou à *G. ternetzi*.

Les infections zoonotiques par *S. iniae* sont le plus souvent associées à la manutention et à la préparation de poissons infectés par des personnes présentant des pathologies sous-jacentes, comme le diabète sucré, une cardiopathie rhumatismale chronique ou une cirrhose (Baiano et Barnes, 2009). La manipulation de poissons infectés vivants ou récemment morts peut provoquer une cellulite de la main ou une endocardite, une méningite et une arthrite en cas d'infection généralisée grave (Boylan, 2011). Les personnes dont le système immunitaire est affaibli ou qui présentent des plaies ouvertes pourraient être infectées par *S. iniae* au moment de manipuler des poissons ou de nettoyer un aquarium (CDC, 2015).

Aeromonas hydrophila est la bactérie du genre *Aeromonas* dont le potentiel zoonotique a été le plus souvent signalé, les bactéries *A. sobria et A. caviae* ayant aussi été mises en cause (Boylan, 2011). Les eaux qui présentent une teneur élevée en éléments nutritifs peuvent favoriser des proliférations de bactéries pouvant infecter les humains en présence de blessures ou en cas d'ingestion; ces infections sont toutefois rares et touchent ordinairement des personnes immunodéprimées (Boylan, 2011).

Une infection par des espèces du genre *Salmonella* peut survenir en cas de contact avec l'habitat d'un animal, comme un aquarium (CDC, 2015). Musto *et al.* (2006) ont recensé en Australie 78 cas d'infections par la bactérie *Salmonella paratyphi B* biovar *Java* chez des personnes qui possédaient des aquariums contenant des poissons tropicaux. Les infections touchaient surtout des enfants (l'âge médian des cas était de trois ans) qui avaient été exposés à l'eau d'un aquarium et ont causé de la diarrhée, de la fièvre, des crampes abdominales, des vomissements, des selles sanguinolentes, des maux de tête et des myalgies.

Les infections zoonotiques surviennent principalement en présence de plaies, de coupures, d'éraflures, d'égratignures ou d'irritations de la peau (Boylan, 2011). La prévention de ces infections peut être assurée en portant des gants au moment de manipuler les poissons ou de nettoyer les aquariums, et en évitant tout contact avec des eaux potentiellement contaminées pour les personnes ayant des plaies ouvertes. Il est également fortement recommandé de se laver les mains avec de l'eau savonneuse après tout contact avec de l'eau d'aquarium. En outre, les personnes dont le système immunitaire est déprimé ou qui souffrent de pathologies sous-jacentes devraient éviter de nettoyer des aquariums ou de manipuler des poissons (Haenen *et al.*, 2013).

Outre les infections bactériennes, les humains peuvent aussi être atteints de nombreuses zoonoses parasitaires transmises par les poissons (p. ex. opisthorchiose, trématodose intestinale, anisakiase ou diphyllobothriose) dont bon nombre sont causées par des helminthes (Chai *et al.*, 2005). Certains parasites des poissons surtout à leur stade infectieux (troisième stade larvaire des nématodes, métacercaires de trématodes, larves plérocercoïde de tænias) peuvent avoir un effet important sur la santé humaine (Scholz, 1999). On a également observé des cas de cryptosporidiose ou isolé le parasite *Cryptosporidium* dans des poissons captifs ou d'ornement sous les formes *Cryptosporidium nasorum, C. parvum* et *C. hominis* (Muench et White, 1997; Ramirez *et al.*, 2004; Roberts *et al.*, 2009; Hunter et Thompson, 2005; Boylan, 2011). Le *Cryptosporidium* est de plus en plus reconnu comme l'une des principales causes de diarrhée modérée à sévère dans les pays en développement (Ryan *et al.*, 2014) et comme un agent pathogène grave chez les patients atteints du SIDA (Ramirez *et al.*, 2004). La transmission peut se faire entre deux personnes, entre un animal et une personne et entre deux animaux, par ingestion d'eau ou d'aliments contaminés et par contact avec des surfaces contaminées (Ramirez *et al.*, 2004). Dans la plupart des cas qui mettent en cause des parasites transmis par l'eau, les infections sont dues à l'ingestion d'oocystes excrétés dans les déjections d'individus infectés, à la consommation de poisson cru, mal cuit ou insuffisamment traité et d'hôtes intermédiaires, comme les escargots. Cependant, Fölster-Holst *et al.* (2001) ont relevé le cas d'un professeur de biologie qui a développé une dermatite après avoir nettoyé l'aquarium de l'école dans lequel il conservait un escargot d'eau et un certain nombre de poissons. La dermatite cercarienne (dermatite du baigneur) est une réponse inflammatoire accompagnée de démangeaisons consécutive à la pénétration dans la peau de parasites non humains de type schistosome, fréquemment contractés pendant la baignade dans des lacs (Fölster-Holst *et al.*, 2001).

Aucune information ne fait expressément état d'un lien entre l'organisme déclaré et un parasite ayant un effet important sur la santé humaine. L'examen d'un échantillon de six *G. ternetzi* verts dans un laboratoire de diagnostic des maladies du poisson de l'Université de Floride a permis de déceler un faible nombre de nématodes parasitaires (*Capillaria*) dans un poisson et un nombre modéré dans les cinq autres poissons. Le rapport ne portait pas sur les poissons sauvages, mais il précisait que la présence de parasites n'était pas liée à la modification génétique. Bien que l'espèce de *Capillaria* détectée n'ait pas été identifiée par le laboratoire, les cas d'infections humaines par des nématodes de ce genre transmis par les poissons sont liés à la consommation de poisson cru ou à demi cuit.

Allergénicité/toxinogénicité

L'analyse interne de la séquence d'acides aminés de la protéine fluorescente insérée, effectuée au moyen de la base de données AllergenOnline (v17; 18 janvier 2017 [en anglais seulement]) n'a permis de trouver aucune correspondance présentant une identité supérieure à 35 % pour les segments de 80 et de 8 acides aminés. L'identité de 35 % pour les segments de 80 acides aminés est une ligne directrice suggérée, proposée par la Commission du Codex Alimentarius pour l'évaluation de protéines nouvellement exprimées produites par du matériel végétal à ADN recombiné (OMS/FAO, 2009). Des résultats semblables ont été fournis par le déclarant à partir d'analyses réalisées au moyen du site Web Allermatch. Bien que le groupe de cnidaires source utilisé pour le transgène exprimé ait été associé à des intoxications chez les humains par des lésions cutanées, ces cas ont été directement attribués à une protéine endogène différente présente dans les espèces de cnidaires (références non indiquées) et non à la protéine fluorescente associée au transgène. Cependant, des recherches menées à l'aide de l'outil BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) sur les séquences de nucléotides et d'acides aminés de la protéine insérée n'ont permis de détecter aucune homologie avec des toxines connues. Les recherches internes de la littérature scientifique n'ont permis de découvrir aucun autre signalement d'effets nocifs attribuables à la protéine fluorescente insérée chez les humains.

Par ailleurs, rien n'indique que le CGT2016 puisse produire des substances toxiques ou dangereuses susceptibles de s'accumuler dans l'environnement ou d'être consommées par d'autres organismes présents dans l'environnement. Aucun effet nocif n'a été constaté dans une étude menée chez des rats mâles alimentés avec de la protéine vert fluorescent (GFP) pure ou avec du canola exprimant la protéine GFP pendant 26 jours (Richards *et al.*, 2003).

Antécédents d'utilisation

La lignée déclarée est commercialisée en tant que poisson d'aquarium dans l'ensemble des États-Unis depuis 2012, sauf en Californie, où il est vendu depuis 2015, sans qu'aucun incident n'ait été signalé. La souche mère *G. ternetzi* est commercialisée en tant que poisson d'ornement pour les aquariums domestiques depuis au moins 1950 (Innes, 1950).

CARACTÉRISATION DES DANGERS

Le potentiel de danger indirect pour la santé du CGT2016 est évalué comme faible (voir le tableau 1), car :

1) le CGT2016 est un poisson tropical génétiquement modifié contenant une seule construction insérée pour laquelle il a été confirmé qu'elle était intégrée de manière stable par des tests de PCR quantitative et de multiples croisements;

2) les méthodes utilisées pour produire l'organisme vivant déclaré ne soulèvent aucune préoccupation indirecte pour la santé humaine, et les organismes sources utilisés pour le matériel génétique inséré ne sont pas pathogènes;

3) bien qu'il existe des cas d'infections zoonotiques associées à des poissons tropicaux d'aquarium, et particulièrement pour des personnes immunodéprimées, aucun cas n'est attribuable à l'organisme déclaré ou à son homologue sauvage, et aucun élément ne prouve que l'organisme déclaré puisse avoir des capacités supérieures à celle de l'espèce sauvage en tant que vecteur;

4) les identités de séquence du transgène inséré ou de toute protéine potentiellement exprimée à partir de la construction ne correspondent à aucun allergène connu ni à aucune toxine connue;

5) on constate un historique d'utilisation sans risque de la lignée déclarée aux États-Unis et de l'espèce sauvage en tant que poisson d'ornement d'aquarium à l'échelle mondiale, et l'absence de signalement d'effet nocif indirect pour la santé humaine dans les publications scientifiques.

Tableau 1. Considérations concernant la gravité des dangers (indirects pour la santé humaine)

Risque	Considérations
Élevé	• Les effets chez des humains en bonne santé sont graves, durent longtemps ou provoquent des séquelles ou la mort chez des personnes en bonne santé. • Les traitements prophylactiques n'existent pas ou présentent des bienfaits limités. • Risque élevé d'effets à l'échelle communautaire
Moyen	• Les effets indirects sur la santé humaine devraient être modérés, mais rapidement résolus chez les personnes en bonne santé, que ce soit spontanément ou grâce à des traitements prophylactiques efficaces disponibles. • Risque possible d'effets à l'échelle communautaire
Faible	• Aucun effet indirect sur la santé humaine ou effets légers, asymptomatiques ou bénins chez des personnes en bonne santé. • Des traitements prophylactiques efficaces sont disponibles. • Aucun risque d'effets à l'échelle communautaire

INCERTITUDE LIÉE À L'ÉVALUATION DES DANGERS INDIRECTS POUR LA SANTÉ HUMAINE

Le classement de l'incertitude associée à l'évaluation des dangers indirects pour la santé humaine est présenté au tableau 2. Des renseignements appropriés ont été fournis par le déclarant ou ont été récupérés auprès d'autres sources ayant confirmé l'identification de l'organisme déclaré ainsi que la méthode utilisée pour modifier génétiquement l'espèce sauvage *G. ternetzi*, y compris la source du matériel génétique employé et la stabilité du génotype et du phénotype qui en résultent. L'analyse de la séquence du matériel génétique inséré n'a permis de détecter aucune homologie avec des toxines connues, et aucun effet nocif attribuable à la protéine fluorescente n'a été signalé chez les humains. Bien qu'aucun effet néfaste sur la santé humaine directement associé à l'organisme déclaré n'ait été signalé, des renseignements sur des substituts trouvés dans la littérature scientifique et portant sur d'autres poissons d'ornement semblent indiquer un potentiel de transmission d'agents pathogènes humains. Ces cas d'infection sont toutefois communs à tous les poissons d'ornement conservés dans des aquariums et ne sont pas propres au tétra noir. Bien que la variété fluorescente de *G. ternetzi* soit utilisée depuis plus de cinq ans aux États-Unis, aucun effet néfaste sur la santé humaine n'a été signalé. Par conséquent, en tenant compte des données empiriques sur l'organisme, des données de substitution tirées de la littérature scientifique sur d'autres poissons d'ornement pour aquariums et de l'absence d'effets nuisibles corroborée par les antécédents d'utilisation sans risque aux États-Unis, l'évaluation des dangers indirects pour la santé humaine du CGT2016 conclut que le risque est faible, avec un **faible niveau d'incertitude.** L'incertitude est faible parce qu'aucun cas d'effets néfastes pour la santé humaine n'a été signalé et que tous les renseignements sur le potentiel d'effets sur la santé

humaine sont fondés sur des rapports portant sur d'autres poissons d'ornement dans des aquariums domestiques.

Tableau 2. Classement de l'incertitude associée à l'évaluation des dangers indirects pour la santé humaine.

Incertitude	Description
Négligeable	Il existe de nombreux signalements d'effets indirects sur la santé humaine liés au risque, et la nature et la gravité des effets signalés sont cohérentes (c.-à-d. faible variabilité); OU Le potentiel d'effets indirects sur la santé humaine chez les personnes exposées à l'organisme a fait l'objet d'une surveillance et aucun effet n'a été signalé.
Faible	Il existe quelques signalements d'effets indirects sur la santé humaine liés au danger, et la nature et la gravité des effets signalés sont relativement cohérentes; OU Aucun effet indirect sur la santé humaine n'a été signalé et aucun effet lié au danger n'a été signalé chez d'autres mammifères.
Modérée	Il existe quelques signalements d'effets indirects sur la santé humaine qui peuvent être liés au danger, mais la nature et la gravité des effets signalés sont incohérentes; OU Des effets liés au danger ont été signalés chez d'autres mammifères, mais pas chez les êtres humains.
Élevé	Il existe des lacunes importantes dans les connaissances (p. ex. quelques signalements d'effets chez des personnes exposées à l'organisme, mais lesdits effets n'ont pas été attribués à l'organisme).

ÉVALUATION DE L'EXPOSITION

IMPORTATION

Le poisson sera introduit au Canada par quatre points d'entrée : Vancouver (Colombie-Britannique), Calgary (Alberta), Toronto (Ontario) et Montréal (Québec)., Des stocks de géniteurs sont conservés en Floride dans deux piscicultures distinctes qui utilisent le même protocole de reproduction. La production de la lignée déclarée est réglementée par la Division de l'aquaculture du département de l'Agriculture et des Services aux consommateurs de la Floride. Des poissons adultes seront expédiés à des distributeurs canadiens qui les distribueront ensuite aux animaleries en vue de leur vente au grand public. Les CGT2016 seront livrés aux détaillants en fonction des quantités commandées, et y seront conservés jusqu'à leur vente

INTRODUCTION DE L'ORGANISME

Les CGT2016 seront commercialisés dans des magasins de détail qui vendent des poissons d'ornement pour les aquariums. À l'heure actuelle, le nombre exact d'individus de l'organisme

déclaré et les endroits où ils seront mis en vente ne sont pas connus. Une étude menée en 2009 estimait que 12 % des ménages canadiens possédaient des poissons (Whitfield et Smith, 2014), mais nous ne connaissons pas le pourcentage des aquariophiles qui pourraient acheter l'organisme déclaré. L'exposition au CGT2016 des aquariophiles qui l'achètent se limitera très vraisemblablement aux activités d'entretien, comme les changements d'eau et les nettoyages d'aquariums. La vente de CGT2016 peut être interrompue en tout temps s'il est jugé nécessaire de mettre fin à l'introduction de l'organisme au Canada. Selon le déclarant, l'élimination du CGT2016 ne nécessite pas de procédure ou de traitement particuliers et se fait de la même manière que pour l'espèce sauvage, dont il ne diffère que par l'ajout d'une protéine d'origine naturelle provenant d'une espèce de cnidaire.

DEVENIR DANS L'ENVIRONNEMENT

Le CGT2106 n'est pas destiné à être relâché dans l'environnement et est censé être confiné dans des aquariums dans les maisons et les animaleries. Si un poisson devait être délibérément ou involontairement relâché dans l'environnement, les chances qu'une population autosuffisante s'établisse sont faibles, car aucun cas d'établissement dans l'environnement n'a été recensé aux États-Unis, où la variété fluorescente de *G. ternetzi* est commercialisée en tant que poisson d'ornement. *G. ternetzi* n'est pas considéré comme une espèce préoccupante dans les eaux canadiennes parce qu'il possède une faible tolérance thermique et n'est pas réputé envahissant (Rixon *et al.*, 2005). Compte tenu de la disponibilité de sources thermales, il est possible que le CGT2016 soit temporairement présent dans l'environnement pendant l'hiver. Si des CGT2016 vivants ou morts sont relâchés dans l'environnement, on s'attend à ce que les CGT2016 en question et les protéines fluorescentes se biodégradent normalement, sans bioaccumulation et sans participation au cycle biogéochimique différemment d'un autre organisme vivant. Par conséquent, le risque d'exposition humaine à l'organisme déclaré (*G. ternetzi* CGT2016) dans l'environnement est faible.

AUTRES UTILISATIONS POSSIBLES

L'organisme déclaré n'est conçu que pour servir de poisson d'ornement dans des aquariums domestiques d'intérieur, et le déclarant ne soutient aucune autre utilisation de l'organisme déclaré. Il est toutefois possible que l'organisme soit utilisé à d'autres fins (p. ex. dans des bassins extérieurs, en tant que poisson-appât ou pour la recherche scientifique). Il n'est pas prévu de produire le CGT2016 au Canada, car la lignée n'est produite qu'en Floride. Le cas échéant, toutefois, l'organisme ne présenterait pas plus de risque que tout autre poisson d'aquarium type. Le déclarant recommande que les personnes qui ne souhaitent pas conserver l'organisme après son achat le retournent au détaillant, le donnent à un autre aquariophile ou l'euthanasient sans cruauté à l'aide de glace ou de glace sèche. Le déclarant a toutefois indiqué une utilisation potentielle de l'organisme dans la recherche scientifique. Selon le brevet détenu par le déclarant (brevet américain 8.975.467), les poissons fluorescents transgéniques peuvent être utilisés dans des études sur des embryons visant à suivre la lignée et la migration cellulaire. Ils peuvent également servir à marquer les cellules dans des expériences de diversité génétique et des études de modélisation du cancer chez les poissons.

CARACTÉRISATION DE L'EXPOSITION

Les risques découlant d'une exposition sur les lieux de travail à la souche déclarée ne sont pas pris en compte dans la présente évaluation[1].

Le potentiel d'exposition humaine au CGT2016 est considéré comme modéré (voir le tableau 3), car :

1) la principale source de CGT2016 au Canada est l'importation du poisson;
2) l'organisme devrait être pouvoir être acheté par le public à tous les endroits où des poissons tropicaux d'aquarium sont vendus, et non à des fins d'introduction intentionnelle dans l'environnement canadien;
3) l'organisme n'est destiné à être utilisé qu'en tant que poisson d'ornement dans des aquariums, ce qui limite l'exposition potentielle du grand public aux personnes qui possèdent un aquarium, qui peuvent comprendre des personnes immunodéprimées;
4) l'exposition humaine type à des poissons vivants ou morts dans un contexte domestique est le plus souvent liée aux activités d'entretien, comme les nettoyages d'aquariums et les changements d'eau.

Tableau 3. Considérations dans le classement de l'exposition humaine par l'intermédiaire d'un rejet dans l'environnement.

Exposition	Considérations
Élevée	• La quantité rejetée, la durée et/ou la fréquence des rejets sont élevées. • L'organisme est susceptible de survivre, de persister, de se disperser, de proliférer et de s'établir dans l'environnement. • La dispersion ou le transport de l'organisme vers d'autres compartiments environnementaux est probable. • La nature du rejet rend vraisemblable le fait que des organismes ou des écosystèmes vulnérables seront exposés ou que les rejets s'étendront au-delà d'une région ou d'un seul écosystème. • En ce qui concerne les organismes exposés, les voies d'exposition permettraient la présence d'effets toxiques, d'effets zoonotiques ou d'autres effets nocifs chez les organismes vulnérables.
Moyenne	• L'organisme est rejeté dans l'environnement, mais les quantités rejetées, la durée du rejet ou la fréquence du rejet sont modérées. • L'organisme peut persister dans l'environnement, mais en faible quantité. • Le potentiel de dispersion ou de transport de l'organisme est limité. • La nature du rejet ou de l'utilisation de l'organisme peut provoquer une certaine exposition intermittente ou de courte durée pour les humains. • En ce qui concerne les organismes exposés, les voies d'exposition ne devraient pas favoriser la présence d'effets toxiques, zoonotiques ou d'autres effets nocifs.

[1] La conformité à l'un ou plusieurs des critères énoncés à l'article 64 de la LCPE est déterminée en fonction d'une évaluation des risques pour l'environnement ou la santé humaine liés à l'exposition dans l'environnement en général. Pour les humains, cela inclut, sans toutefois s'y limiter, les expositions par l'air, l'eau et l'utilisation de produits contenant ces substances. Une conclusion établie en vertu de la LCPE peut ne pas s'appliquer à l'évaluation basée sur des critères de risque définis dans le *Règlement sur les produits contrôlés*, évaluation qui fait partie d'un cadre réglementaire du Système d'information sur les matières dangereuses au travail (SIMDUT) pour les produits destinés à être utilisés au travail ni empêcher qu'une telle évaluation ait lieu.

Exposition	Considérations
Faible	• L'organisme est utilisé en milieu confiné (aucun rejet autorisé ou intentionnel n'est prévu). • La nature du rejet ou la biologie de l'organisme devraient permettre de contenir l'organisme de sorte que les populations ou les écosystèmes vulnérables ne seront pas exposés. • L'organisme est rejeté en faibles quantités, dans le cadre de rejet de courte durée et peu fréquent, et l'organisme ne devrait pas survivre, persister, se disperser ou proliférer au sein de l'environnement dans lequel il est rejeté.

INCERTITUDE LIÉE À L'ÉVALUATION DES RISQUES INDIRECTS POUR LA SANTÉ HUMAINE

Le système de classement de l'incertitude associée à l'évaluation de l'exposition indirecte pour la santé humaine est présenté au tableau 4. Des renseignements appropriés ont été fournis par le déclarant à propos des sources d'exposition et des facteurs ayant une incidence sur l'exposition humaine, y compris de l'importation, de la vente au détail et de la survie de l'organisme dans l'environnement. Il a été précisé que le CGT2016 ne sera pas produit au Canada et que la source d'exposition sera restreinte à l'importation des poissons dans le commerce des aquariums d'ornement. La survie de l'organisme devrait être limitée en raison de sa faible tolérance aux températures inférieures à 8 °C. Des données empiriques ont été présentées indiquant que le CGT2016 était moins tolérant au froid que son homologue sauvage. L'exposition humaine (tant pour le grand public que pour les personnes immunodéprimées) au Canada devrait principalement se produire dans le cadre des activités d'entretien et de nettoyage des aquariums domestiques. À l'heure actuelle, le nombre réel de poissons CGT2016 devant être importés au cours des prochaines années demeure inconnu. Par conséquent, en raison des données limitées relatives aux scénarios d'exposition sur le marché canadien, l'exposition humaine au CGT2016 est jugée **faible à moyenne**, avec un **niveau d'incertitude modéré**.

Tableau 4. Classement de l'incertitude associée à l'exposition indirecte pour la santé humaine.

Incertitude	Information disponible
Négligeable	Grande qualité des données sur l'organisme, les sources d'exposition humaine et les facteurs ayant une incidence sur l'exposition humaine à l'organisme. Signes d'une faible variabilité
Faible	Grande qualité des données sur des organismes proches ou des substituts valides, les sources d'exposition humaine et les facteurs ayant une incidence sur l'exposition humaine à l'organisme ou à des substituts valides. Signes de variabilité
Modérée	Données limitées sur l'organisme, des organismes proches ou des substituts valides, les sources d'exposition humaine et les facteurs ayant une incidence sur l'exposition humaine à l'organisme.

Incertitude	Information disponible
Élevée	Importantes lacunes dans les connaissances. Dépendance importante à l'égard de l'opinion des experts.

CARACTÉRISATION DES RISQUES

UTILISATION DÉCLARÉE

Dans la présente évaluation, le risque est caractérisé en fonction du paradigme intégré à l'article 64 de la LCPE (1999) selon lequel un danger et une exposition à ce danger sont nécessaires pour qu'un risque existe. La conclusion de l'évaluation des risques s'appuie sur les dangers, et sur ce que l'on peut prévoir à propos de l'exposition par rapport à l'utilisation déclarée.

Le CGT2016 est un poisson tropical génétiquement modifié de couleur verte qui est obtenu à partir d'une variété blanche du tétra noir qui est naturellement présente dans l'environnement. La couleur verte est obtenue par l'insertion d'une cassette d'expression codant pour une protéine vert fluorescent provenant d'une espèce de cnidaire. La souche déclarée sera commercialisée dans l'ensemble du Canada en tant que poisson d'ornement dans les aquariums domestiques.

Bien que des cas d'infections zoonotiques liées à des expositions à des poissons d'aquarium aient été signalés, le tétra noir est un poisson d'aquarium répandu présentant un long historique d'utilisation sans risque et sans aucun cas d'infection signalé dans les publications scientifiques. De la même manière, le CGT2016 est commercialisé aux États-Unis depuis 2012, et aucun effet nocif n'a été rapporté. La protéine insérée et les méthodes utilisées pour modifier le CGT2016 ne présentent aucun potentiel pathogène ou toxique pour les êtres humains.

Au vu du faible potentiel de danger et du potentiel d'exposition faible à modéré, les risques indirects pour la santé humaine liés à l'utilisation du CGT2016 en tant que poisson d'ornement dans des aquariums sont considérés comme faibles.

AUTRES UTILISATIONS POTENTIELLES

L'organisme déclaré peut être utilisé à d'autres fins (p. ex. dans des bassins extérieurs, en tant que poisson-appât ou pour la recherche scientifique). Comme il a été démontré que les poissons fluorescents peuvent être attrayants pour les prédateurs (Hill *et al.*, 2011), il est possible que l'organisme déclaré soit utilisé comme poisson-appât. Bien que cette utilisation ne soit pas recommandée, il est aussi possible de conserver le CGT2016 dans des bassins extérieurs lorsque les températures sont clémentes, comme en Floride, où ils sont produits. Selon le brevet publié, il est possible d'utiliser l'organisme dans la recherche sur des modèles animaux, mais il serait alors confiné, ce qui limiterait l'exposition du grand public. Indépendamment de son utilisation, l'information disponible n'indique aucun effet indirect potentiel sur la santé humaine.

CONCLUSION DE L'ÉVALUATION DES RISQUES

Rien n'indique que l'organisme présente un risque d'effet néfaste sur la santé humaine aux niveaux d'exposition prévus pour la population canadienne lorsqu'il est utilisé en tant que poisson d'ornement dans des aquariums. Dans ces conditions, le CGT2016 ne devrait pas

poser plus de risque pour la santé humaine que son homologue sauvage. Bien que les niveaux d'incertitude associés au classement des risques pour l'environnement aillent de négligeables à modérés, en raison du caractère limité des données scientifiques propres au CGT2016 et du manque de cohérence des résultats provenant d'études sur d'autres organismes transgéniques fluorescents, le risque pour la santé humaine que présente le CGT2016 ne devrait pas répondre aux critères de l'alinéa 64(c) de la LCPE (1999). Aucune autre mesure n'est recommandée.

RÉFÉRENCES CITÉES

Aubry, A., Chosidow, O., Caumes, E., Robert, J., and Cambau, E. 2002. Sixty-three cases of *Mycobacterium marinum* infection: clinical features, treatment, and antibiotic susceptibility of causative isolates. Arch. Intern. Med. 162:1746-1752.

Axelrod, H.R., and Vorderwinkler, W. 1976. *Encyclopedia of Tropical Fishes* (23 ed.). Neptune City: T.F.H. Publications. Inc.

Baiano, J.C.F., and Barnes, A.C. 2009. Towards control of *Streptococcus iniae*. Emerg. Infect. Dis. 15:1891-1896.

Benine, R. C., Melo, B.F., Castro, R. M., and Oliveira, C. 2015. Taxonomic revision and molecular phylogeny of *Gymnocorymbus* Eigenmann, 1908 (Teleostei, Characiformes, Characidae). Zootaxa 3956(1):1-28.

Beran, V., Matlova, L., Dvorska, L., Svastova, P., and Pavlik, I. 2006. Distribution of mycobacteria in clinically healthy ornamental fish and their aquarium environment. J. Fish Dis. 29(7):383-393.

Boylan, S. 2011. Zoonoses associated with fish. Vet. Clin. North Am. Exot. Anim. Pract. 14(3):427-438.

CDC. 2015. Healthy pets healthy people. Centers for Disease Control and Prevention. Accessed August 10, 2017.

Chai, J.Y., Murrell, K.D., and Lymbery, A.J. 2005. Fish-borne parasitic zoonoses: status and issues. Int. J. Parasit. 35(11):1233-1254.

Cortemeglia, C., and Beitinger, T.L. 2006. Susceptibility of transgenic and wildtype zebra danios, *Danio rerio*, to predation. Environ. Biol. Fish. 76(1):93-100.

Fölster-Holst, R., Disko, R., Röwert, J., Böckeler, W., Kreiselmaier, I., and Christophers, E. 2001. Cercarial dermatitis contracted via contact with an aquarium: case report and review. Br. J. Dermatol. 145(4):638-640.

Frankel, J.S. 2004. Inheritance of trunk banding in the tetra (*Gymnocorymbus ternetzi* Characidae). J. Hered. 95(3):262-264.

Gauthier, D.T. 2015. Bacterial zoonoses of fishes: A review and appraisal of evidence for linkages between fish and human infections. Vet. J. 203(1):27-35.

Géry, J. 1977. Characoids of the World. Tropical Fish Hobbyist Publications, Neptune City, N.J. 672 p.

Haenen, O.L.M., Evans, J.J., and Berthe, F. 2013. Bacterial infections from aquatic species: potential for and prevention of contact zoonoses. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. 32(2):497-507.

Hill, J.E., Kapuscinski, A.R., and Pavlowich, T. 2011. Fluorescent transgenic zebra danio more vulnerable to predators than wild-type fish. Trans. Amer. Fish. Soc. 140(4):1001-1005.

Huminer, D., Pitlik, S.D., Block, C., Kaufman, L., Amit, S., and Rosenfeld, J.B. 1986. Aquarium-borne *Mycobacterium marinum* skin infection: Report of a case and review of the literature. Arch. Dermatol. 122(6):698-703.

Hunter, P. R., and Thompson, R. A. 2005. The zoonotic transmission of *Giardia* and *Cryptosporidium*. Int. J. Parasitol. 35(11):1181-1190.

Innes, W.T. 1950. Exotic Aquarium Fishes: A work of general reference. Innes Publishing Company, Philadelphia. 521p.

Jha, P. 2010. Comparative study of aggressive behaviour in transgenic and wildtype zebrafish *Danio rerio* (Hamilton) and the flying barb *Esomus danricus* (Hamilton), and their susceptibility to predation by the snakehead *Channa striatus* (Bloch). Ital. J. Zool. 77(1):102-109.

Lahey, T. 2003. Invasive *Mycobacterium marinum* infections. Emerg. Infect. Dis. 9(11):1496-1497.

Lowry, T., and Smith, S.A. 2007. Aquatic zoonoses associated with food, bait, ornamental, and tropical fish. J. Am. Vet. Med. Assoc. 231(6):876-880.

Meschiatti, A.J., Arcifa, M.S., and Fenerich-Verani, N. 2000. Fish communities associated with macrophytes in Brazilian floodplain lakes. Env. Biol. Fish. 58(2):133-143.

Mills, D.L., and Vevers, G. 1989. The Tetra Encyclopedia of Freshwater Tropical Aquarium Fishes. Tetra Press, Blacksburg, VA. 208 p.

Muench, T.R., and White, M. R. 1997. Cryptosporidiosis in a tropical freshwater catfish (*Plecostomus* spp.). Med. Diagn. Invest. 9(1):87-90.

Musto, J., Kirk, M., Lightfoot, D., Combs, B.G., and Mwanri, L. 2006. Multi-drug resistant *Salmonella* Java infections acquired from tropical fish aquariums, Australia, 2003-04. Commun. Dis. Intell. Q. Rep. 30(2):222-227.

Ramirez, N.E., Ward, L.A., and Sreevatsan, S. 2004. A review of the biology and epidemiology of cryptosporidiosis in humans and animals. Microbes Infect. 6(8):773-785.

Richards, H.A., Han, C-T., Hopkins, R.G., Failla, M.L., Ward, W.W., and Stewart, C.N. Jr. 2003. Safety assessment of recombinant green fluorescent protein orally administered to weaned rats. J. Nutr. 133(6):1909-1912.

Riera, J., Conesa, X., Pisa, J., Moreno, J., Siles, E., and Novell, J. 2016. Septic arthritis caused by *Mycobacterium marinum*. Arch. Orthop. Trauma Surg. 136(1):131-134.

Rixon, C.A.M., Duggan, I.C., Bergeron, N.M.N., Ricciardi, A., and MacIssac, H.J. 2005. Invasion risks posed by the aquarium trade and live fish markets on the Laurentian Great Lakes. Biodiv. Conserv. 14:1365-1381.

Roberts, H.E., Palmeiro, B., and Weber, E.S. 3rd. 2009. Bacterial and parasitic diseases of pet fish. Vet. Clin. North Am. Exot. Anim. Pract. 12(3):609-638.

Ryan, U., O'Hara, A., and Xiao, L. 2004. Molecular and biological characterization of a *Cryptosporidium molnari*-like isolate from a guppy (*Poecilia reticulata*). App;l. Environ. Microbiol. 70(6):3761-3765.

Sakurai, A., Sakamoto, Y., and Mori, F. 1992. Aquarium Fish of the World: A comprehensive guide to 650 species. Chronicle Books, San Francisco. 306 p.

Scheurmann, I. 1990. Aquarium Fish Breeding. Barron's Educational Series, Inc. 144 p.

Scholz, T. 1999. Parasites in cultured and feral fish. Vet. Parasit. 84(3):317-335.

Slany, M., Jezek, P., Fiserova, V., Bodnarova, M., Stork, J., Havelkova, M., Kalat, F., and Pavlik, I. 2012. *Mycobacterium marinum* infections in humans and tracing of its possible environmental sources. Can. J. Microbiol. 58(1):39-44.

Slany, M., Jezek, P., and Bodnarova, M. 2013. Fish tank granuloma caused by *Mycobacterium marinum* in two aquarists: two case reports. Biomed. Res. Int. 2013: 161329.

Weir, M., Rajić, A., Dutil, L., Cernicchario, N., Uhland, F.C., Mercier, B., and Tuševljak, N. 2012. Zoonotic bacteria, antimicrobial use and antimicrobial resistance in ornamental fish: A systematic review of the existing research and survey of aquaculture-allied professionals. Epidemiol. Infect. 140(2):192-206.

Whitfield, Y., and Smith, A. 2014. Household pets and zoonoses. EHR. 57(2):41-49.

WHO/FAO. 2009. Food derived from modern biotechnology, 2nd edition. Rome, Italy: World Health Organization/Food and Agriculture Organization of the United Nations (WHO/FAO), Codex Alimentarius.

Wu, T-S., Chiu, C-H., Yang, C-H., Leu, H-S., Huang, C-T., Chen, Y-C., Wu, T-L., Chang, P-Y., Su, L-H., Kuo, A-J., Chia, J-H., Lu, C-C., and Lai, H-C. 2012. Fish tank granuloma caused by *Mycobacterium marinum*. PLoS ONE 7(7):e41296.